ارزیابی کریستالی و فازی هیدروکسی آپاتیت سنتز شده به طریق سل-ژل با نسبت های مختلف Ca/P*

مهدی کلانتر(۱)   مریم مجاهدیان(۲)   نرگس وحیدی مهرجردی(۳)

چکیده

در این مطالعه با استفاده از مواد اولیه پنتا اکسید فسفر (P_2O_5) و کلسیم‌نیترات چهار آبه ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$) و به کارگیری روش سل – ژل سنتز پودر هیدروکسی آپاتیت با سه نسبت مولی متفاوت کلسیم به فسفر (Ca/P) معادل ۱/۶، ۱/۵ و ۱/۶۷ انجام گرفته است. نتایج پراش پرتوی اشعه ایکس (XRD) نشان می دهد که بالاترین شدت قله پراش برای فازهای هیدروکسی آپاتیت و بتا-تری کلسیم فسفات (β-TCP) متعلق به پودر سنتز شده با نسبت Ca/P = ۱/۶ می باشد. وجود این دو فاز به طور همزمان در پودر سنتز شده باعث شده تا یک بیوسرامیک دو فازی با قابلیت استخوان سازی مناسب ایجاد شود. با عملیات حرارتی در دمای ۱۱۰۰ درجه سانتی گراد، شدت قله‌های پراش فاز β-تری کلسیم فسفات ($Ca_3(PO_4)_2$) در هر سه نمونه افزایش یافته و از شدت قله‌های پراش هیدروکسی آپاتیت کاسته می شود به طوری که برای نمونه با Ca/P=۱/۵، فاز غالب β-تری کلسیم فسفات خواهد بود. نتایج مشاهدات میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)در بزرگنمایی بالا بخوبی ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت در مقیاس ۱۰ الی ۴۰۰ نانومتر را نشان داده و در بزرگنمایی پایین خوشه هایی از نانو ذرات مشاهده می شود. نتایج مطالعات ارزیابی زیست فعالی نشان می دهد که با افزایش نسبت Ca/P، میزان آپاتیت تشکیل شده روی سطح افزایش می یابد که نتیجه آن زیست فعالی بالاتر بیومتریال می باشد.

واژه‌های کلیدی هیدروکسی آپاتیت؛ سل –ژل؛ کلسیناسیون – تف‌جوشی؛ ساختار فازی و میکروسکوپی؛ زیست فعالی.

Crystal and Phase Evolution of Sol-Gel Derived Hydroxyapatite Synthesis with Various Ca/P Ratios

M. Kalantar   M. Mojahedian   M. N. Vahidi

Abstract

Hydroxyapatite due to its biocompatibility and chemical and biological affinity with bone tissue is used for orthopedic implant, dental implant, oral and maxillofacial surgery and as a coating film on metal or alloy implants. In this study, hydroxyapatite powders were synthesized with three different ratios of Ca/P = 1.6, Ca/P = 1.5 and Ca/P = 1.67 using sol-gel method and utilizing P_2O_5 and $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ as starting materials. The X-ray diffraction (XRD) results reveal that the highest peak of hydroxyapatite and β-TCP, a biphasic bioceramic with high ability of ossification, are found for the hydroxyapatite powder synthesized with Ca/P=1.6. Microstructural studies at high magnifications reveal a uniform distribution of hydroxyapatite nanoparticles (10-400 nm) while at low magnifications only clusters of nano-particles could be detected. The peak intensity of the β-TCP phase is increased after applying the sintering heat treatment for all three ratios of Ca/P. By increasing the Ca/P ratio from 1.5 to 1.6, the grain size of the sintered samples increased and the morphology of the microstructure became coarser. The biocompatibility evaluation of the synthesized hydroxyapatite indicate that increasing the ratio of Ca/P will increase the volume and rate of apatite formation on the surface of the sintered samples.

Key Words Hydroxyapatite; Sol-gel; Calcination, phase analysis; microstructure; Sintering; Bioactivity.

* نسخه‌ی نخست مقاله در تاریخ ۹۳/۳/۲۶ و نسخه‌ی پایانی آن در تاریخ ۹۴/۸/۱۸ به دفتر نشریه رسیده است.

(۱)نویسنده مسئول: دانشیار دانشکده مهندسی معدن و متالورژی- دانشگاه یزد.

(۲) دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی بافت، دانشکده علوم فنون نوین دانشگاه تهران.

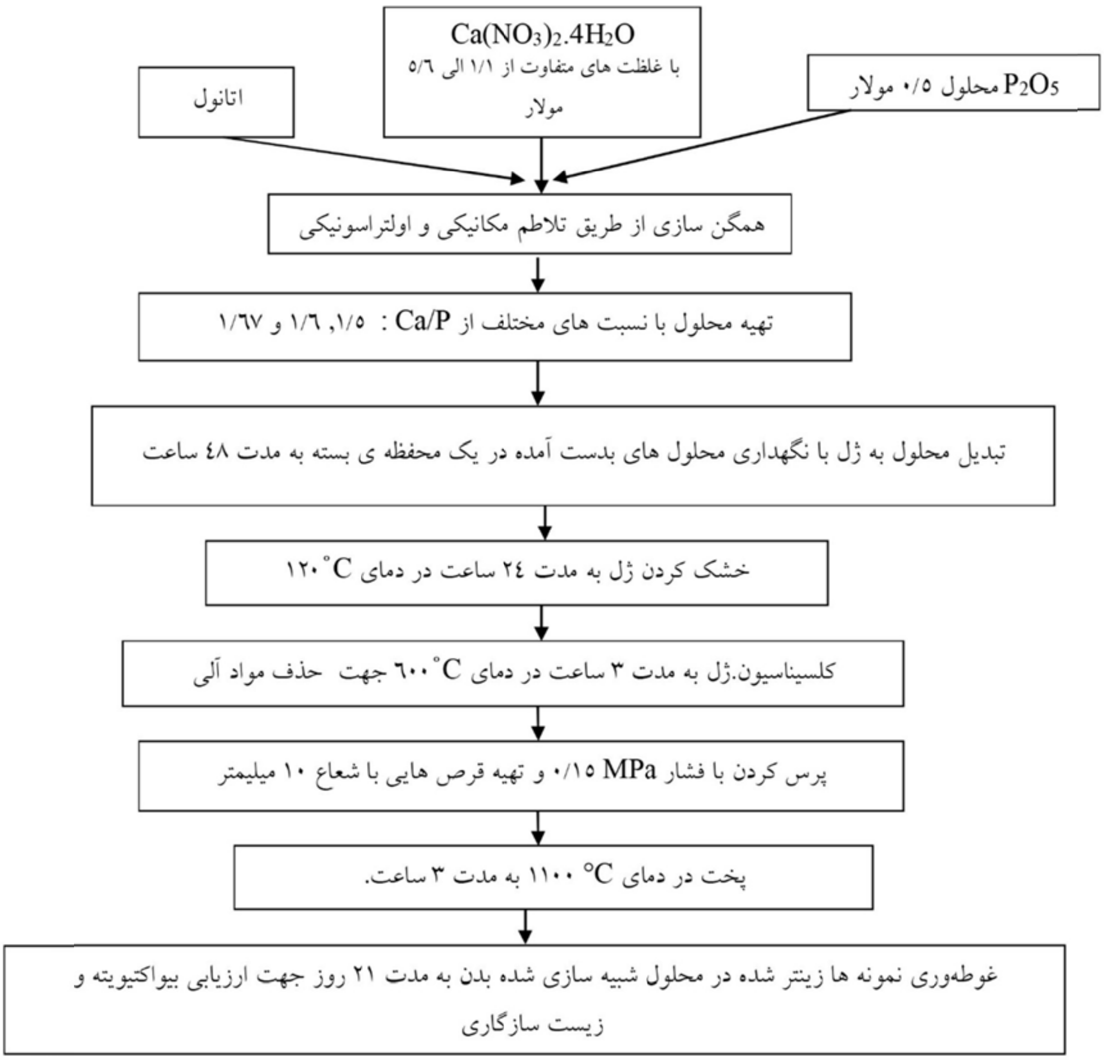
(۳)دانشجوی کارشناسی ارشد سرامیک- دانشگاه علم و صنعت ایران.

مقدمه

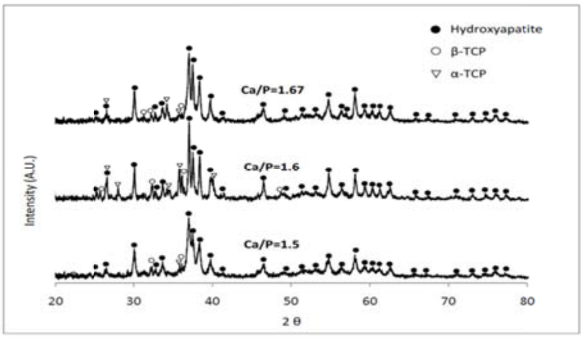
قسمت اصلی بافت استخوانی بدن انسان را هیدروکسی آپاتیت با فرمول شیمیایی $Ca_{10}(PO4)_6(OH)_2$ تشکیل می‌دهد. به همین دلیل، استفاده از ایمپلنت‌های ساخته شده از هیدروکسی آپاتیت پیوند مستحکمی با بافت استخوان برقرار می کند. هیدروکسی آپاتیت علاوه بر کاربرد در ایمپلنت‌های اورتوپدی، به علت زیست سازگاری و ترکیب شیمیایی و بیولوژیکی مشابه با بافت استخوان، در ایمپلنت‌های دندانی، جراحی فک و صورت, پوشش روی کاشتنی های بدن بخصوص ایمپلنت‌های فلزی یا آلیاژی و بعضی داروها نیز کاربرد دارد[5-1]. علاوه بر این، این ترکیب می تواند برای جایگزینی بافت‌های استخوانی از دست رفته یا ترمیم آن‌ها نیز استفاده شود[8-6]. ترکیب شیمیایی هیدروکسی آپاتیت دلیل اصلی مقاومت در برابر انحلال یا تحلیل رفتن آن در محیط‌های فیزیولوژیکی است. به طوری که ایمپلنت‌های هیدروکسی آپاتیتی پس از چند سال قرار گیری در بدن، تقریباً به همان صورت اولیه باقی می مانند[12-9]. نانوکریستالی بودن هیدروکسی آپاتیت در استخوان می تواند نقش مهمی در زیست فعالی آن داشته باشد. بر همین اساس سنتز نانوپودر-های هیدروکسی آپاتیت با سطح ویژه بالا مبنای کارهای تحقیقاتی قرار گرفته است[21-13]. در حقیقت سرامیک های Hydroxy Apatite)HA) با اندازه ذرات نانومتری وظایف بیومتریالی خود را بهتر انجام داده و از استحکام بالاتری برخوردار خواهند بود. تا کنون روش‌های زیادی مثل رسوب دهی شیمیایی [15] ،واکنش هیدروترمال یا هیدرولیز [16] سنتز مکانو شیمیایی[17] اسپری دراینگ [18] آلیاژسازی مکانیکی [19]، رسوب دادن فراصوتی [20] و سل– ژل [22-21] برای تولید نانو پودر HA مورد استفاده قرار گرفته است. سل-ژل یک فرآیند شیمیایی تر بوده که امکان ورود آلودگی به آن پایین است اما از عیوب آن می توان به حساسیت فرآیند، زمان بر بودن، عدم امکان تولید صنعتی و هزینه بالای آن اشاره نمود. در مقایسه با سایر روش‌ها، پودر تولید شده با روش سل-ژل ریزتر و حتی در ابعاد نانو و با ساختار آمورف بوده که قابلیت تف‌جوشی و کریستالیزه شدن نیز دارد[23-22]. در مقایسه با سایر ترکیبات کلسیم فسفات، حلالیت هیدروکسی آپاتیت بلورین و استوکیومتری Ca/P=۱/٦۷ در آب خالص بسیار کم است و در صورت حل شدن آن در آب، محلول قلیایی با pH=۷–۹ ایجاد می نماید.

در فرآیند سنتز هیدروکسی آپاتیت به روش سل-ژل، تاثیر پارامترهای زیادی بر روی کیفیت پودر سنتز شده از جمله نوع ترکیبات اولیه مورد استفاده به عنوان حامل های فسفر و کلسیم، دما، pH، سرعت همزدن محلول، نسبت Ca/P در محلول اولیه (سل)، نوع و مقدار عامل ژله‌ای کننده و واکنش‌گرها، زمان پیر شدن، شرایط کلسیناسیون و پخت (دما، زمان و اتمسفر) مورد بررسی قرار گرفته است[28-21]. نسبت Ca/P تاثیر زیادی بر ترکیب فازی و ریزساختار و در نتیجه خواص هیدروکسی آپاتیت بدست آمده به خصوص زیست سازگاری و زیست فعالی آن دارد. در یک کار تحقیقاتی سنتز هیدروکسی آپاتیت به روش رسوب دهی با استفاده از مواد اولیه کربنات کلسیم، هیدروفسفات کلسیم و هیدروفسفات آمونیم انجام گرفته؛ نتایج این تحقیق نشان داده است که برای نسبت مولی Ca/P=1، اندازه کریستال‌ها ۵۰ نانومتر و با افزایش این نسبت اندازه ذرات تا ۲۰۰ نانومتر می-رسد[29]. در کار دیگری سنتز هیدروکسی آپاتیت با استفاده از فرآیند سل-ژل و مواد اولیه نیترات کلسیم با آب تبلور و تری اتیل فسفات $(C_2H_5O)PO$ با نسبت مولی مختلف از Ca/P انجام گرفته است[30] . مطابق نتایج بدست آمده، فقط در نسبت ۱/٦۷ می توان به خلوص بالایی از هیدروکسی آپاتیت رسید. در یک مطالعه با استفاده از مواد اولیه مشابه با کار قبلی و روش سل-ژل، رابطه بین دما، pH، سرعت هم زدن و زمان پیر نمودن محلول (سل) از یک طرف و نسبت Ca/P حاصله در محصول هیدرولیز شده (ژل)از طرف دیگر، مورد بررسی قرار گرفته است[31]. مطابق نتایج

حاصله، با کنترل شرایط فوق می توان بـه فـاز خـالص هیدروکسی آپاتیت رسید، در غیر این صورت فازهـای ناخالص ماننـد $CaO, Ca_2P_2O_7, Ca_3(PO_4)_2$ و $CaCO_3$ در محصول ظاهر می شوند. با افزایش دمـای محلـول، نسبت Ca/P در محصول به نسبت اسـتوکیومتری خـود یعنی ۱/٦۷ نزدیک مـی شـود و خلـوص هیدروکسـی آپاتیت افزایش می یابد. در یک فرآینـد رسـوب دهـی (شیمی تر) مشاهده شده اسـت کـه بـا کـاهش نسـبت مـولی Ca/P بـه مقـادیر کمتـر از ۱/٦۷، بـی نظمـی ساختاری هیدروکسی آپاتیت سـنتز شـده افـزایش مـی یابد. این امر به دلیل دور شدن از نسبت اسـتوکیومتری مـی باشـد کـه بـر خـواص بیوشـیمیایی آن اثـر گـذار است[32]. هدف از این تحقیـق در مرحلـه اول، تولیـد نانو پودر هیدروکسی آپاتیت از طریق فرآیند سل-ژل و با استفاده از مواد اولیه اکسید فسفر و نیترات کلسیم در سه نسبت اسـتوکیومتری مختلـف از Ca/P بـوده و در مرحله بعدی، ارزیـابی ریزسـاختار و خـواص زیسـت سازگاری نمونه‌های تف‌جوشی شده جهت رسیدن بـه نسـبت بهینـه از Ca/P بـه عنـوان یـک بیومتریـال می باشد.



شکل ۱ فلوچارت مربوط به سنتز هیدروکسی آپاتیت به روش سل- ژل



شکل ۲ الگوی پراش اشعه ایکس (XRD) پودرهای سنتز شده به روش سل-ژل و کلسینه شده.
در دمای ٦۰۰°C به مدت ۳ ساعت با نسبت های مولی مختلف از Ca/P

مواد و روش انجام آزمایش ها

در این تحقیق، سنتز پودر هیدروکسی آپاتیت با نسبت-های مولی مختلف از Ca/P به روش سل-ژل انجام گرفته است. مطابق فلوچارت در شکل (۱) پنتااکسید فسفر (P_2O_5,Merck) و نیترات کلسیم متبلور ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$,Merck) به طور جداگانه در اتانول خالص حل شده و با روش های مکانیکی و اولتراسونیکی هر کدام به مدت ۱ ساعت همگن سازی شدند. در مرحله بعد، محلول ۰/۵ مولار پنتا اکسید فسفر به آرامی و به صورت قطره‌ای به محلول با غلظت متفاوت ۵/٦، ۱/٦۷ و ۱/۱ مولار از نیترات کلسیم که به شدت در حال به هم خوردن بود اضافه گردیده و محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه مورد تلاطم و همگن سازی قرار گرفت. از محلول نیترات کلسیم با غلظت های متفاوت به منظور بدست آوردن محصولی با نسبت های مولی متفاوت از Ca/P معادل ۱/۵ (نمونه H1.5)، ۱/٦ (نمونه H1.6) و ۱/٦۷ (نمونه H1.67) استفاده شده است. برای تبدیل محلول به ژل، محلول شفاف به دست آمده در یک محفظه ی بسته به مدت ٤۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شده (aging) و ژل به دست آمده به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۱۲۰°C در خشک کن، رطوبت زدایی گردید. ژل بدست آمده به مدت ۳ ساعت در دمای ٦۰۰°C کلسینه شده تا مواد آلی و فرار آن خارج شوند. در مرحله‌ی بعد، قرص هایی با شعاع ۱۰ میلیمتر با استفاده از دستگاه پرس با فشار ۰/۱۵ MPa تهیه شده و به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۱۰۰ °C مورد تف‌جوشی قرار گرفتند.

پودر سنتز شده و نمونه های تف‌جوشی شده مورد آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD, α-Co, mA, 40kV) در فاصله‌ی ۸۰° > 2θ > ۲۰° قرار گرفته تا تغییرات فازی بر حسب نسبت Ca/P و بواسطه عملیات حرارتی مورد ارزیابی قرار گیرد. برای ارزیابی بیواکتیویته و زیست سازگاری، نمونه‌ی قرصی تف-جوشی شده به مدت ۲۱ روز در محیط شبیه ساز بدن (Simulation bold fluid) قرار گرفته و برای هر نمونه آنالیز XRD، مشاهدات میکروسکوپی و آنالیز EDX انجام گرفت.

نتایج و بحث

سنتزو کلسیناسیون با نسبت های مختلف از Ca/P

شکل(۲) الگوی پراش اشعه ایکس پودرهای کلسینه شده از ژل‌های با نسبت مولی مختلف از Ca/P را نشان می دهد. مطابق شکل فوق، برای هر سه نوع پودر کلسینه شده، فاز کریستالی غالب هیدروکسی آپاتیت بوده و بالاترین شدت قله پراش برای این فاز متعلق به نمونه H1.6 می باشد. همینطور در این نمونه با نسبت Ca/P=1.6، فاز β-TCP(Tri-calcium phosphate) بطور قوی تری ظاهر شده است. وجود همزمان دو فاز هیدروکسی آپاتیت و بتا تری کلسیم فسفات در پودر سنتز شده بیانگر تولید بیوسرامیک دو فازی (BCP) (Biphasic Calcium Phosphates) با خواص ویژه

می‌باشد. در حقیقت، هیدروکسی آپاتیت با پایداری بالاتر و بتا-تری کلسیم فسفات با قابلیت انحلال‌پذیری بالاتر باعث شده تا قابلیت استخوان‌سازی افزایش یابد[4]. شدت قله‌های پراش در نمونه H1.5 در مقایسه با دو نسبت دیگر ضعیف تر بوده و می توان گفت که کریستالیزاسیون به خوبی انجام نگرفته است و این نمونه حاوی مقدار زیادی فاز آمورف است. دلیل این مشاهده میتواند مربوط به کاهش غلظت یون فعال کلسیم با تحرک پذیری بالا باشد.

با محاسبه میزان بلوری شدن (X_c) پودر های کلسینه شده با استفاده از معادله لاندی(Landi) [23] (معادله ۱) نیز می توان بخوبی پایین تر بودن درجه کریستالیزاسیون نمونه H1.5 را مشاهده نمود. به طوری که مطابق جدول (۱) میزان فاز آمورف برای نمونه H1.5 به ۴۹٪ می رسد در حالی که برای نمونه های H1.6 و H1.67 فاز بلوری بیشتری تشکیل شده است و فاز آمورف به ترتیب به ۳٦ و ٤١ درصد می رسد. به همین دلیل حضور فازهای تری کلسیم فسفات برای این دو نسبت از Ca/P محسوس تر است.

$$X_c = 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}}$$

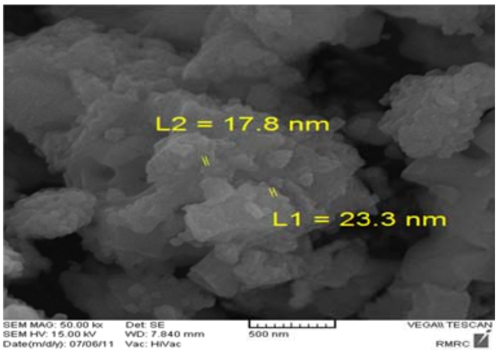
(۱)

در رابطه فوق $V_{112/300}$ دره یا شکاف شدت اشعه X تفرق یافته بین صفحات HA(112) و HA(300) و I_{300} شدت قله پراش مربوط به صفحه HA(300) می باشد.

جدول ۱ درجه بلوری پودرهای کلسینه شده در دمای ٦۰۰°C به مدت ۳ ساعت با نسبت های مولی Ca/P مختلف

نسبت Ca/P	H1.5	H1.6	H1.67
درجه بلوری شدن	۰/۵۱	۰/۶۴	۰/۵۹

شکل(۳) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی برای نمونه H1.6 را نشان می دهد. در شکل فوق، می توان رسوبات سوزنی شکل از هیدروکسی آپاتیت را مشاهده نمود. در این شکل ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت در مقیاس ۱۰ الی ٤۰۰ نانومتر بخوبی دیده می-شوند. این ذرات با آگلومره شدن خوشه‌هایی از ذرات نانو، شکل گرفته‌اند.



شکل ۳ تصویر میکروسکوپی پودر هیدروکسی آپاتیت در نمونه H1.6

عملیات حرارتی

شکل(٤) الگوی پراش اشعه ایکس برای قرص های پرس شده با فشار ۰/۱۵MPa و تف‌جوشی شده در دمای ۱۱۰۰°C به مدت ۳ ساعت با نسبت های مولی مختلف از Ca/P را نشان می دهد. همانطور که از این شکل پیداست، با تف‌جوشی نمودن نمونه‌ها، شدت قله‌های پراش فازهای TCP-α و $Ca_3(PO_4)_2$ کاهش یافته اما شدت قله‌های پراش فاز TCP-β در هر سه نمونه افزایش می یابد به طوری که کامپوزیتی از هیدروکسی آپاتیت و TCP-β شکل می گیرد. می‌توان نتیجه گرفت که در ضمن فرآیند پخت، فاز از TCP-α به TCP-β تبدیل شده است [۲۵-۲٤]. فاز غالب در نمونه H1.5 بعد از پخت، TCP-β بوده در حالی که در حالت کلسیناسیون (٦۰۰° C) فاز غالب هیدروکسی آپاتیت می‌باشد. این مشاهدات با نتایج بدست آمده در کارهای تحقیقاتی دیگر که پایداری فاز TCP-β در دمای پخت بالاتر از ۸۰۰° C را بررسی نموده‌اند مطابقت خوبی دارد[33-40].

با توجه به نتایج می‌توان گفت که با فشردگی پودر به صورت قرص و پخت در دمای بالاتر نسبت به دمای فرآیند کلسیناسیون، فرآیند نفوذ تسریع یافته و

شرایط ترمودینامیکی و سینتیکی لازم برای تبدیل فاز آمورف به فاز پایدار β–TCP فراهم می گردد. در این حین، فاز نیمه پایدار α–TCP به فاز پایدار β–TCP نیز تبدیل می‌شود. فاز اصلی در نمونه H1.67 بعد از پخت HA بوده و شامل مقدار اندکی فاز β-TCP می‌باشد. از سوی دیگر با انجام فرآیند پخت در نمونه H1.5، شدت قله‌های پراش فاز HA کاهش پیدا کرده که می-تواند به دلیل تبدیل مقداری از فاز هیدروکسی آپاتیت فقیر از کلسیم(Ca-deficient hydroxyapatite) به β–TCP و CaO مطابق واکنش (۲) باشد:

$$Ca_{10}(PO_4)6(OH)_2=3Ca_3(PO_4)_2+CaO+H_2O \quad (۲)$$

وجود فاز CaO در الگوی پراش اشعه ایکس نیز می‌تواند به همین دلیل باشد. لازم به ذکر است که تحت شرایط کلسیناسیون، تغییرات انرژی آزاد واکنش فوق منفی می‌باشد.

می توان اندازه کریستالیت‌ها در نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت را بر اساس رابطه شرر(Scherrer) تخمین زده و مقایسه کرد [۴۱]:

$$d = \frac{0.9\lambda}{w\cos\theta} \quad (۳)$$

که در این رابطه d قطر کریستالیت (nm)، λ طول موج اشعه ایکس (nm)، w پهنای قله پراش اصلی در نیمه ارتفاع بر حسب رادیان و θ زاویه قله پراش اصلی است. در این تحقیق از آند کبالت با طول موجی برابر با ۰/۱۷۹ nm استفاده شده است. همچنین، زاویه پراش قله پراش اصلی هیدروکسی آپاتیت در همه حالات برابر با ۱۸/۵° است. جدول(۲) پهنای قله پراش اصلی در نیمه ارتفاع (w) و اندازه کریستالیت های بدست آمده (d) از پودرهای کلسینه شده و قرص های تف-جوشی شده را در نسبت های Ca/P مختلف نشان می-دهد.

همانطور که از جدول (۲) پیداست، برای هر سه نسبت مولی از Ca/P، ساختار نانومتری در نمونه‌های کلسینه و تف‌جوشی شده حاکم می‌باشد. همچنین، در هر سه نسبت مولی از Ca/P، پس از پخت در دمای ۱۱۰۰°C به مدت ۳ ساعت، قطر کریستالیت‌ها افزایش پیدا کرده است. دلیل این افزایش مربوط به فرآیند رشد دانه و کاهش مرزها به دلیل تراکم ذرات و بالاتر بودن دمای تف‌جوشی نسبت به دمای کلسیناسیون می‌باشد. کمترین افزایش برای نمونه H1.5 می باشد که می تواند به دلیل تبدیل قسمتی از HA به فاز β–TCP باشد. البته کریستالیت‌های HA تبدیل نشده موجود در سیستم با افزایش دما رشد خواهند کرد. جدول(۳) شدت قله پراش صفحات (211) در فاز هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد. همان طور که نشان داده شده است، با انجام فرآیند پخت، شدت قله‌های پراش اصلی فاز هیدروکسی آپاتیت برای دو نمونه H1.6 و H1.67 افزایش یافته است؛ به طوری که برای نمونه H1.67 شدت قله پراش تفرق یافته به بیش از دو برابر نسبت به حالت قبل از پخت افزایش یافته است. این نتیجه بیانگر کریستاله شدن فاز آمورف و همچنین رشد دانه-های هیدروکسی آپاتیت می‌باشد. در نمونه H1.5، فرآیند کاملاً متفاوت است و شدت قله‌های پراش هیدروکسی آپاتیت پس از پخت کاهش یافته و در مقابل، رشد چشمگیری از فاز β-TCP مشاهده می‌شود (پیشرفت واکنش ۲). دلیل این تفاوت مشاهده شده در نمونه H1.5، که در آن نسبت مولی Ca/P = 1.5 می باشد، برابری نسبت مولی Ca/P با نسبت مورد نیاز برای تری کلسیم فسفات (Ca/P = 3/2) بوده و شرایط برای تشکیل این ترکیب نسبت به هیدروکسی آپاتیت که در آن Ca/P = 10/6 = 1/66 است مساعدتر است.

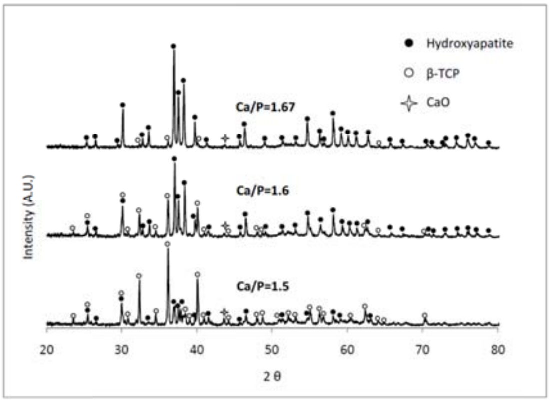
با افزایش نسبت کلسیم به فسفر تا ۱/٦، مورفولوژی ریزساختار نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت تف‌جوشی شده درشت‌تر شده و اندازه دانه‌های کریستالی افزایش می‌یابد جدول(۲).

جدول ۲ پهنای قله پراش اصلی در نیمه ارتفاع و اندازه کریستالیت‌های HA در نمونه‌های پودر و قرص تف‌جوشی شده در نسبت‌های مولی مختلف از Ca/P.

Ca/P	نمونه	پهنای قله‌های پراش (رادیان)	اندازه کریستالیت ها (nm)
H1.5	پودر کلسینه شده	۰/۰۰٤۱	٤۱
	قرص تف‌جوشی شده	۰/۰۰۳٤	٤۹
H1.6	پودر کلسینه شده	۰/۰۰۲۷	٦۲
	قرص تف‌جوشی شده	۰/۰۰۲۰	۸۲
H1.67	پودر کلسینه شده	۰/۰۰۳٤	٤۹
	قرص تف‌جوشی شده	۰/۰۰۲۷	٦۲

جدول۳ مقایسه شدت قله پراش صفحات (211) در پودرهای کلسینه شده در دمای ٦۰۰°C به مدت ۳ ساعت و قرص های تف‌جوشی شده در دمای ۱۱۰۰°Cبه مدت ۳ ساعت

	H1.5	H1.6	H1.67
پودر کلسینه شده	۵۸۸	۷۵۵	٦۷۳
قرص تف‌جوشی شده	۳۱۳	۱۱۲۳	۱٤۷۱



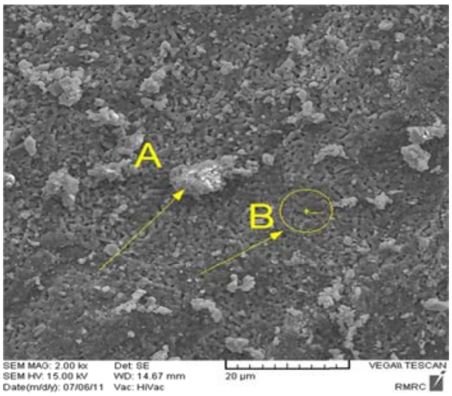
شکل٤ الگوی پراش اشعه ایکس برای نمونه‌های قرصی با نسبت های مولی مختلف از Ca/P تف‌جوشی شده در دمای ۱۱۰۰°C به مدت ۳ ساعت.

نتایج میکروسکوپی نیز تاییدکننده این موضوع بوده به طوری که مطابق شکل(۵) ریزساختار برای نمونه تف‌جوشی شده H1.6 درشت‌تر از نمونه H1.5 می‌باشد که می‌تواند به دلیل حضور بیشتر یون‌های فعال کلسیم با ضریب نفوذ بالاتر باشد. یکنواختی و فشردگی خوبی در تصاویر میکروسکوپی مشاهده می‌شود و هیچگونه ترکی در زمینه بیومتریال هیدروکسی آپاتیت دیده نمی‌شود. مطابق آنچه از قبل گفته شد، با پخت نمونه H1.5، شدت قله‌های پراش هیدروکسی آپاتیت کاهش یافته و در مقابل تشکیل چشمگیر فاز β-TCP دیده می‌شود. در همین راستا، آنالیز EDX برای نقاط A و B بر روی تصویر میکروسکوپی(۵-الف) بخوبی همین موضوع را تایید می‌نماید. لازم به ذکر است که آنالیز EDX برای نقاط A و B به ترتیب مطابقت خوبی با ترکیب فاز آپاتیت و دانه‌های کریستالی هیدروکسی آپاتیت در نمونه تف‌جوشی شده

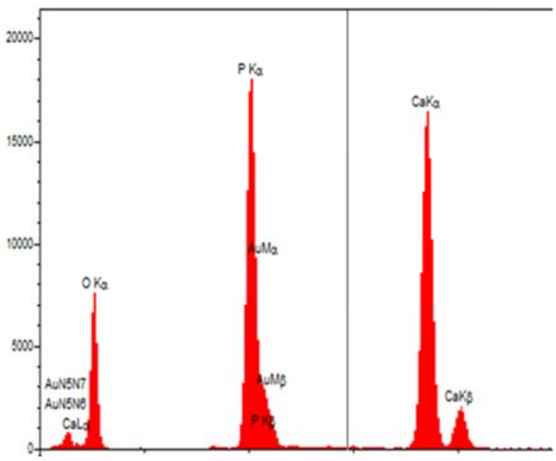
دارد. شکل(۵- ب و ج) جدول(٤).

رفتار زیست فعالی

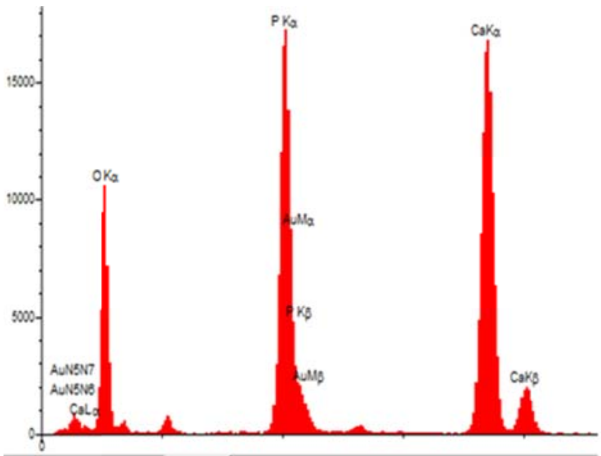
جهت ارزیابی خاصیت زیست فعالی، نمونه‌های تف-جوشی شده در محلول SBF برای مدت زمان متفاوت غوطه‌ور شده و سطح آنها از نظر مورفولوژی و ترکیب مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان می‌دهد که با قرارگیری نمونه‌ها در محلول شبیه‌سازی شده بدن، لایه‌هایی از آپاتیت بیولوژیک به واسطه جایگزینی یون کربنات بجای فسفات، $Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x(OH)_2$، (نواحی سفید رنگ و شبه کروی در شکل(٦)) بر روی سطح نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت شکل می‌گیرد که نتیجه آن واکنش سریعتر و بهتر ماده بیومتریال در تماس با بافت طبیعی بدن می‌باشد. در این صورت، زیست فعالی و زیست سازگاری افزایش یافته و در صورت استفاده به عنوان ایمپلانت (implant)، دوره درمان کاهش یافته و التهاب کمتری ایجاد خواهد شد. وجود حفره‌ها در تصویر میکروسکوپی شکل (۸-الف) نشانه حل شدن هیدروکسی آپاتیت در یک قسمت از سطح و مناطق برجسته بیانگر شکل‌گیری رسوب آپاتیت بر روی سطح می‌باشد. ایجاد سطح حفره‌دار مطابق شکل(۸-ب) نشانه‌ای از نرخ بالاتر انحلال نمونه نسبت به رسوب آپاتیت است.



(الف)



ب

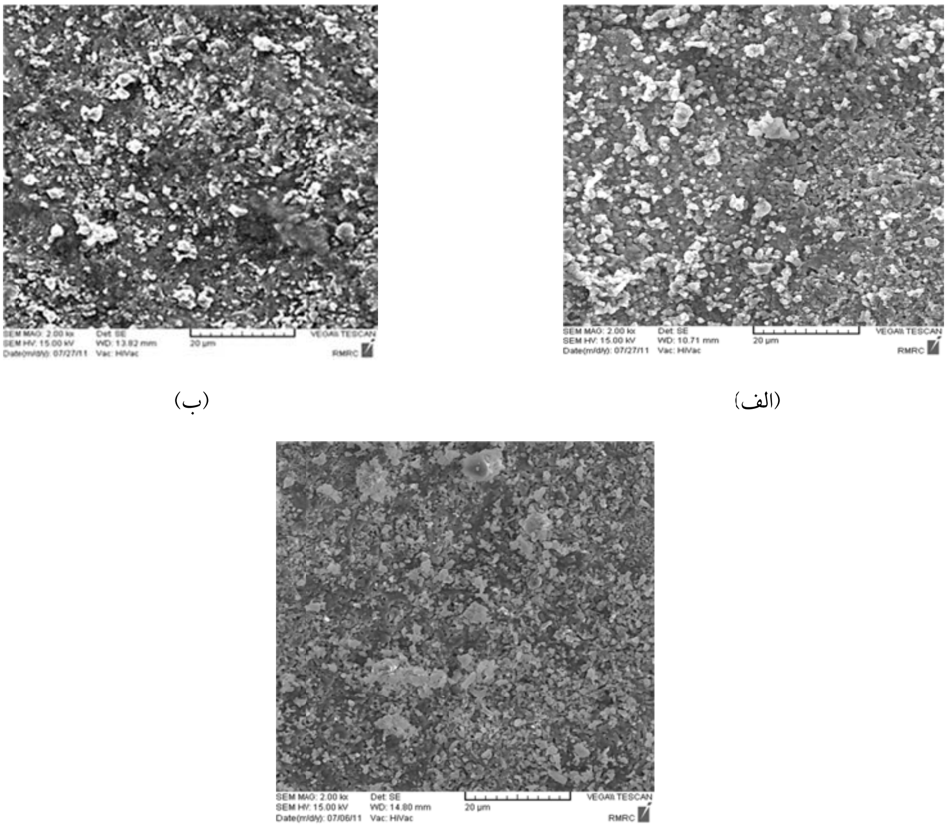


ج

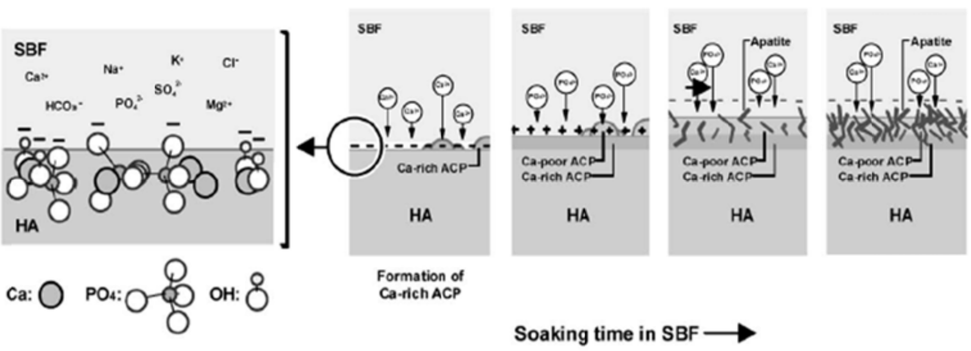
شکل ۵: الف)ریزساختار SEM از نمونه تف‌جوشی شده H1.5 ب و ج) آنالیز EDX برای نقاط A و B

جدول ٤ آنالیز ترکیب عناصر در نقاط A و B

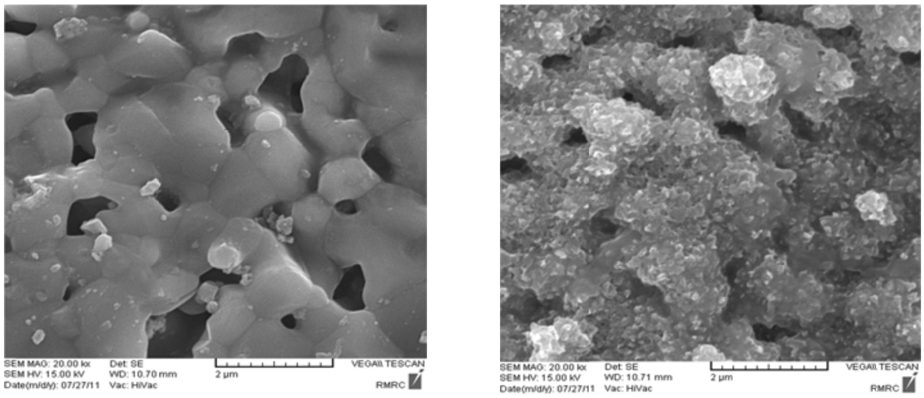
عناصر	O	P	Ca	Au
درصد وزنی				
A	٤٨/٩	١٨/٢٩	٢٦/٩٢	٥/٨٩
B	٤٣/٨٦	١٥/٨٤	٢٨/٤	١١/٨٨
A-بر مبنای ۱۰۰٪ بدون در نظر گرفتن عنصر طلا	٥١/٩٦	١٩/٤٣	٢٨/٦	–
B-بر مبنای ۱۰۰٪ بدون در نظر گرفتن عنصر طلا	٤٩/٧٧	١٧/٢٢	٣٢/٤٥	–


(الف) (ب) (ج)

شکل ٦ تصاویر SEM از نمونه‌های غوطه‌ور شده در محلول SBF به مدت ۲۱ روز برای نمونه‌های الف: H1.5 ب: H1.6 ج: H1.67؛ نواحی سفید رنگ و شبه‌کروی نشان دهنده رسوبات آپاتیت بیولوژیک بر روی سطح نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت می‌باشد.



شکل ۷ شماتیکی از نحوه شکل‌گیری آپاتیت بر روی سطح در محلول شبیه‌سازی شده بدن انسان [٤٣].



الف ب

شکل ۸ تصاویر SEM حاکی از وجود الف: ناهمواری و ب: حفره‌ها بر روی سطح نمونه‌های مورد تست زیست فعالی در محلول SBE.

نتیجه گیری

۱- فاز کریستالی غالب در هر سه نوع پودر کلسینه شده، هیدروکسی آپاتیت بوده و بالاترین شدت قله پراش برای این فاز متعلق به پودر با نسبت Ca/P = ۱/٦ می‌باشد؛ در ضمن برای این نسبت، فاز β-TCP به طور قوی‌تری ظاهر می‌شود، به طوری که وجود دو فاز هیدروکسی آپاتیت با پایداری بالاتر و بتا-تری کلسیم فسفات با قابلیت انحلال پذیری بالاتر به طور همزمان در پودر سنتز شده باعث شده تا بیوسرامیک دو فازی با خواص ویژه بخصوص قابلیت استخوان سازی ایجاد شود.

۲- اندازه کریستالیت ها با استفاده از تفرق اشعه X و مشاهدات میکروسکوپی در بزرگنمایی بالا اندازه-گیری شده و به خوبی ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت در مقیاس ۱۰ الی ٤۰۰ نانومتر مشاهده شده و در بزرگنمایی پایین خوشه‌هایی از ذرات نانو مشاهده می‌شود.

۳- شدت قله پراش فاز α-TCP، $Ca_3(PO_4)_2$ با تف-جوشی نمونه‌ها کاهش یافته اما شدت قله پراش فاز β-TCP در هر سه نمونه افزایش می‌یابد بطوریکه برای نمونه با Ca/P=۱/۵، فاز غالب β-TCP خواهد بود در حالیکه قبل از تف‌جوشی فاز غالب هیدروکسی آپاتیت خواهد بود.

٤- قطر کریستالیت‌ها در نمونه‌های تف‌جوشی شده نسبت به پودر کلسینه شده بالاتر بوده و با افزایش نسبت Ca/P تا ۱/٦ افزایش اندازه دانه‌های کریستالی محسوس‌تر بوده و مورفولوژی درشت-تری از ریزساختار مشاهده می‌شود.

۵- نتایج مطالعات ارزیابی زیست فعالی نشان می‌دهد که با قرارگیری نمونه‌ها در محلول شبیه‌سازی شده بدن، لایه‌هایی از آپاتیت بیولوژیک به واسطه جایگزینی یون کربنات به جای فسفات، $Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x(OH)_2$، بر روی سطح نمونه‌های هیدروکسی آپاتیت شکل می‌گیرد؛ با افزایش نسبت Ca/P، میزان آپاتیت تشکیل شده روی سطح افزایش یافته به طوری که برای نمونه با نسبت Ca/P=۱/٦۷ ، لایه‌هایی از رسوبات درشت و به هم پیوسته که حفره‌های ریز و درشت در بین آنها وجود دارد حاصل می‌شود. این نتیجه بیانگر زیست فعالی مناسب می‌باشد (انجام همزمان دو فرآیند انحلال هیدروکسی آپاتیت و شکل‌گیری رسوب آپاتیت).

مراجع

1. Hench L.L., Wilson J., "An introduction to bio-ceramics", World Scientific, Singapore, (1993).

2. Burg K.J.L, Porter S, Kellam J.F, "Biomaterial development for bone tissue engineering", *Biomaterials*, Vol. 21, pp. 2347-2359, (2000).

3. Dash A.K, Cudworth G.C, "Therapeutic applications of implantable drug delivery systems", *J. Pharmacol. Toxicol. Method*, Vol. 40, pp. 1-12, (1998).

4. Suchanek W, Yoshimura M, "Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants", *Journal of Materials Research*., Vol. 13, pp. 94-117, (1998).

5. Elliott J.C, "Structure and chemistry of the apatite and other calcium orthophosphates", *Elsevier, Amsterdam*, (1994).

6. Gros R.Z. L, "Calcium phosphates in oral biology and medicine", Monographs in Oral Science, Vol. 15, Karger. Bassel, (1991).

7. Elliot J.C, Murugan R, Ramakrishna S, "Studies in inorganic Chemistry", Elsevier, Amsterdam, (1994).

8. Lavemia C, Schoenung J.M, "Calcium phosphate ceramics as bone substitutes", *Ceramic Bulletin.,* Vol. 70, pp. 95-100, (1991).

9. Wijs F. D, Lange L.D, Putter G.L, Wijngaard C.V, Groot D, "Hydroxylapatite blocks for correction of resorption defects in the frontal area of the partly edentulous maxilla", pp.235-24 in Vincenzini, *Ceramics in Clinical Applications*, Elesvier, Amesterdam, (1987).

10. Ramselaar M. M, Driessens A, Klak F.C.M, Wijn W.D, Van J.R, "Rates and tissue interactions", *Journal of Materials Science*., Vol. 2, pp. 63-70, (1991).

11. Hench L.L, "Bioceramics: from concept to clinic", *journal of the American Ceramic Society*. Soc., Vol. 74, pp. 1487-510, (1991).

12. Groot D, "Biocompatibility of clinical implant materials", Vol. 1, CRC Press, Boca Ratoan, (1981).

13. Geros R.Z.L, "Calcium phosphates in Oral biology and medicine", Chap. 6, in H.M Myers Ed., Karger, Basel, pp.154-157, (1991).

14. LeGeros R.Z, "Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics", *Clinical Materials*, Vol. 14, pp. 65-88, (1993).

15. Saeri M.R, Afshar A, Ghorbani M, Ehsani N, Sorrell C.C, "The wet precipitation process of hydroxyapatite", *Materials Letters*, Vol. 57, pp. 4064-4069, (2003).

16. Liu H.S, Chin T.S, Lai L.S, Chiu S.Y, Chiu K.H, Chuang K.H, Change C.S, Lui M.T, "Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method", *Ceramic International*, Vol. 23, pp. 19-25, (1997).

17. Toriyama M, Ravaglioli A, Krajewski A, Celotti G, Piancastelli A, "Synthesis of hydroxyapatite-based powders by mechano-chemical method and their sintering", *Journal of the European Ceramic Society*., Vol. 16, pp. 429-436, (1996).

18. Luo P, Nieh T.G, “Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method”, *Materials science and Engineering: C.* , Vol. 3, pp. 75-78, (1995).

19. Silva C.C, Pinheiro A.G, Deoliveira R.S, Goes J.C, Aranha N, Deoliveira L.R, Sombra A.S.B, “Properties and invivo investigation of HP nanocrystalline obtained by mechanical alloying”, *Materials science and Engineering:C*, Vol. 24, pp. 549-554, (2004).

20. Yuncao L, Bozhang C, Hung J.-F, “Synthesis of HP nanoparticles in ultrasonic precipitation”, pp. 1-4, (2005).

21. Kim I.S, Kumta P.N, “Sol–gel synthesis and characterization of nanostructured hydroxyapatite powder*”, materials science and Engineering:B.,* Vol. 111, pp. 232-236, (2004).

22. Liu D.M, Yang Q, Troczynski T, Tseng W. J, “Structural evolution of sol–gel-derived hydroxyapatite Biomaterials”, Vol. 23, pp. 1679-1687, (2002).

23. Landi E, Tampieri A, Celotti G, Sprio S, “Densification behavior and mechanisms of synthetic hydroxyapatites”, *Journal of the European Ceramic Society*., Vol. 20, pp. 2377-2387, (2000).

24. Bogdanovicience I, Beganskiene A, Suadu K, “Calcium hydroxyapatite ceramics prepared through aqueous sol-gel processing”, *Materials Research Bulletin*., Vol. 12, pp. 203-212, (2006).

25. Pang Y.X, Bao X, “Influence of temperature, ripening time and calcinations on the morphology and crystallinity of hydroxyapatites nanoparticles”, *Journal of the European Ceramic Society*. Soc., Vol. 23, pp. 1967-1704, (2003).

26. Warng F, Li M, Liu Y.P, Qi Y.X, “A simple sol-gel technique for preparing hydroxyapatite nanoparticles”, *Mater. Letters*, Vol. 59, pp. 916-919, (2005).

۲۷ .فتحی، م، حنیفی، آ، روحانی اصفهانی، س. ا، "ساخت، مشخصه یابی و ارزیابی مقایسه ای زیست فعالی هیدروکسی آپاتیت نانوساختار"، استقلال–مواد پیشرفته در مهندسی، سال ۳۰، شماره ۲، پاییز، صفحه ۱–۱۲، (۱۳۹۰).

28. Bezz G, Gelott G, “A novel sol gel technique for hydroxyapatite preparation”, *Material Chemistry and Physics*, Vol. 78, pp. 816-824, (2003).

29. Shiha W.-J, Chena Y.-F, Wang M.-C, Hona M.-H, “Crystal growth and morphology of the nano-sized hydroxyapatite powders from $CaHPO_4.2H_2O$ and $CaCO_3$ by hydrolysis method”, *J. of Crystal Growth*, Vol. 270, pp. 211-218, (2004).

30. Hsieh M.-F, Perng L.H, Chin T.-S, Perng H.-G, “Phase purity of sol-gel derived hydroxyapatite ceramic”, *Biomaterials*, Vol. 21, pp. 2601-2607, (2001).

31. Eshtiagh-Hosseini H, Housaindokht M.R, Chahkandi M, “Effects of parameters of sol-gel process on the phase evolution of soil-gel derived hydroxyapatite”, *Material Chemistry and Physics*, Vol. 106, pp. 310-316, (2007).

32. Lioua S.-C, Chena S.-Y, Leeb H.-Y, Bowc J.-S, “Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders”, *Biomaterials*, Vol. 25, pp. 489-196, (2004).

33. Kokubo T, Takadama H, "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?", *Biomaterials*, Vol. 27, pp. 2097-2915, (2006).

34. Dorozhkin S.V, Epple M, "Biological and medical significance of calcium phosphates", *Angewandte Chemie International Edition*., Vol. 41, pp. 3130-46, (2002).

35. Roeder R.K, Converse G.L, Kane R.J, Yue W, "Hydroxyapatite-reinforced polymer biocomposites for synthetic bone substitutes" *The Journal of The Minerals, Metals & Materials Society*., Vol. 60, pp. 38-45, (2008).

36. Stevens M.M, "Biomaterials for bone tissue engineering", *Materials Today*, Vol. 11, pp. 18-25, (2008).

37. Anderson J.M, Shive M.S, "Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres", *Advanced Drug Delivery Reviews* ., Vol. 28, pp. 5-24, (1997).

38. Ghannam A, "Bone reconstruction: from bioceramics to tissue engineering", *Expert Review of Medical Devices*, Vol. 2, pp. 87-102, (2005).

39. Vallet-Regi M, Gonzalez-Calbet J.M, "Calcium phosphates as substitution of bone tissues", *Progress in Solid State Chemistry*., Vol. 32, pp. 1-31, (2004).

40. Dorozhkin S.V, "Calcium orthophosphates", *journal of materials Science*., Vol. 42, pp. 1061-95, (2007).

41. Cullity B.D, "Elements of X-ray diffraction", 2nd ed., Addison-Wesley publishing, (1977).

42. Muller F.A, Helebrant A, Strand J, Griel P, "Biomimetic apatite formation chemically treated titanium", Biomaterials, Vol. 25, pp. 1187, (2004)

43. Xingdong Z, Pin Z, Jianguo Z, Weiqun C, Choung W, "A study of hydroxyapatite ceramics and its osteogenesis in bioceramics and the human body", *Elsevier applied science*, London, Vol. 7, pp. 1287, (2004).